

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/017562

International filing date: 26 November 2004 (26.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2003-398514  
Filing date: 28 November 2003 (28.11.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 10 February 2005 (10.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

19.1.2005

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年11月28日  
Date of Application:

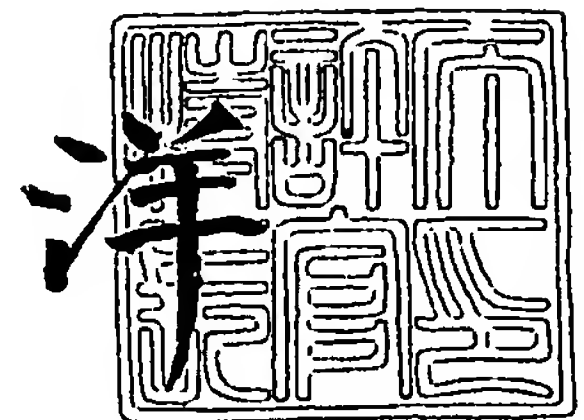
出願番号 特願2003-398514  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2003-398514]

出願人 旭化成ケミカルズ株式会社  
Applicant(s):

2005年 1月12日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 X1031373  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C08B 15/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 9 条西 9 丁目 北海道大学内  
    【氏名】 松井 博和  
【発明者】  
    【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 9 条西 9 丁目 北海道大学内  
    【氏名】 伊藤 浩之  
【発明者】  
    【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 9 条西 9 丁目 北海道大学内  
    【氏名】 渡辺 賢二  
【発明者】  
    【住所又は居所】 宮城県延岡市川島町 8 3 4 番地 旭化成ケミカルズ株式会社内  
    【氏名】 大生 和博  
【発明者】  
    【住所又は居所】 宮城県延岡市川島町 8 3 4 番地 旭化成ケミカルズ株式会社内  
    【氏名】 伊吹 一郎  
【特許出願人】  
    【識別番号】 303046314  
    【氏名又は名称】 旭化成ケミカルズ株式会社  
【代理人】  
    【識別番号】 100094709  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 加々美 紀雄  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100116713  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 酒井 正己  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100117145  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小松 純  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 013491  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1  
    【包括委任状番号】 0314744

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

還元末端に非還元糖が結合したグルコース残基 3 以上の  $\beta$ -グルカン粉末。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 非還元性  $\beta$ -グルカン粉末

【技術分野】

【0001】

本発明は  $\beta$ -グルカン粉末、 $\beta$ -グルカン粉末と1種以上の活性成分を含む組成物、該  $\beta$ -グルカン粉末の製造方法に関する。より詳細には、医薬、農薬、肥料、飼料、食品、工業、化粧品等の用途において、末端にアミノ基を有する活性成分と化学的相互作用（メイラード反応等）を起こさず、安定的に組成物に配合できる  $\beta$ -グルカン粉末に関する。

【背景技術】

【0002】

医薬、農薬、肥料、飼料、食品、工業、化粧品等の固形製剤において、活性成分に  $\beta$ -グルカン粉末である結晶セルロースやセルロース粉末を添加し製剤とすることで、活性成分に結合性、崩壊性を付与でき、錠剤や顆粒剤等の製剤としての形状が保持できること、消化管で速やかに製剤が崩壊することにより活性成分の薬効を効果的に発現できること等の効果が得られる。

【0003】

結晶セルロースの中でも、圧縮成形性に優れるものは、低打圧で打錠できるため打圧で失活する活性成分の活性維持が可能である、顆粒含有錠とできる、少量添加で硬度を付与できるため、嵩高い活性成分の錠剤化や多種類の活性成分を含む薬剤の錠剤化が可能で、場合によっては小型化できる、液状成分の担持性に優れ、打錠障害を抑制できる等の利点を有する。

【0004】

しかしながら、従来の結晶セルロースやセルロース粉末では、還元末端に反応性の高い還元基（アルデヒド基）を有していることから、末端にアミノ基を有する活性成分とアミノカルボニル結合を形成して着色する場合があります、そのような活性成分の製剤中へ結晶セルロースやセルロース粉末を添加できないという課題があった。

【0005】

結晶セルロース、セルロース粉末の還元末端を不活性化する方法としては、（1）水素化ホウ素ナトリウム等の還元剤により還元末端をアルコールとする方法、（2）亜塩素酸ナトリウム等の酸化剤により還元末端をカルボン酸にする方法、（3）酵素的処理により還元末端を化学修飾する方法等が挙げられる。

しかしながら（1）、（2）においては最終的に得られる結晶セルロース、セルロース粉末中に還元剤、酸化剤が残留する、反応中に解重合が進み成形性が低下する等の安全性の問題、機能低下の問題があった。また（3）においては、転移酵素や水解酵素が糖転移反応により糖鎖が付加される場合、そのほとんどが非還元末端側から反応が進行するため、結晶セルロース、セルロース粉末の酵素による還元末端の化学修飾は不可能と考えられていた。

【0006】

一方、近年、健康志向の増大に伴い、グルコシル基あるいはフラクトシル基転移酵素を用いた種々の生理活性を有するオリゴ糖、有用配糖体の合成等の研究が盛んに行われており、カップリングシュガー、フラクトオリゴ糖、パラチノース、 $\alpha$ -グルコシルステビオサイドなどが低う触性、ビフィズス菌増殖因子等の性質を有するものとして実用化されている。フラクトシル基転移酵素としては *Bacillus subtilis* 産生のレバンシュクラゼ及び *Aspergillus niger*、*Penicillium oxalicum*、*Penicillium frequentans*、*Penicillium* sp. K25 などかびの産生する  $\beta$ -フラクトフラノシダーゼが知られている。

【0007】

特許文献1及び非特許文献1に *Arthrobacter* sp. K-1 株が産生する  $\beta$ -フラクトフラノシダーゼの転移反応が記載されているが、 $\beta$ -グルカンの例としてはグルコース残基が2であるセロビオースを基質とした生成物が記載されているのみであり

、グルコース残基が3以上の $\beta$ -グルカンにフラクトースが結合した生成物や、結晶セルロース、セルロース粉末の還元末端にフラクトースが結合した生成物について、これらが本来有する成形性や崩壊性等の機能を保持しつつ、さらにアミノ基を有する活性成分との反応を不活性化することで、従来使用できなかった活性成分を製剤化できるという有用性については全く考えられていなかった。

【特許文献1】特開平4-91795号公報

【非特許文献1】澱粉科学、第39巻、第2号、p. 135~142 (1992)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、上記課題に鑑み、医薬、農薬、肥料、飼料、食品、工業、化粧品等の用途において、末端にアミノ基を有する活性成分と化学的相互作用（メイラード反応等）を起こさず、安定的に組成物に配合できるセルロース粉末等の $\beta$ -グルカン粉末であって、安全性の問題、機能低下の問題のないセルロース粉末等の $\beta$ -グルカン粉末を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、セルロースへの糖転移反応について鋭意検討を重ねた結果、*Arthrobacter*属が産生する $\beta$ -fructofuranosidaseが効果的に、還元末端側からの糖転移反応が可能であることを見出し本発明を完成するに至った。即ち本発明は、下記の通りである。

(1) 還元末端に非還元糖が結合したグルコース残基3以上の $\beta$ -グルカン粉末。

【0010】

発明の実施の形態

以下本発明について詳細に説明する。

本発明の $\beta$ -グルカン粉末はグルコース残基が3以上である必要がある。3未満だとセルロース分子鎖間の水素結合が弱く、水溶解性が強くなり十分な崩壊作用が得られない。上限は特に規定しないが、セルロース残基量が多すぎると繊維性が発現し成形性、崩壊性が低下するので1000が一応の目安である。成形性、崩壊性のバランスに優れているのはグルコース残基6~800が好ましく、更に40~450が好ましい。

【0011】

本発明の $\beta$ -グルカンは全ての還元末端に非還元末端が結合している必要はなく、アミノ基を有する医薬品等の有効成分が安定的に存在しうる程度に非還元末端が結合していればよい。活性成分が安定的に存在しうるか否かは、活性成分と $\beta$ -グルカンの等量混合物を40℃、75%下での保存安定性試験による着色状態で簡便に見ることができる。 $\beta$ -グルカンは還元末端を有しているため、末端にアミノ基を有する活性成分とアミノカルボニル結合を形成し着色するメイラード反応を起こすことが知られているが、本発明の $\beta$ -グルカン粉末は、還元末端を非還元糖で不活性化しているため着色反応を起こさないという優れた効果を有する。本発明の効果は特に1級アミンを有する活性成分に有効である。

【0012】

本発明の $\beta$ -グルカン粉末は、公知の化学合成反応、公知の酵素反応によりグルコース残基3以上の $\beta$ -グルカンに非還元糖を結合させたものであればよいが、安全性、機能の点で $\beta$ -フラクトフラノシダーゼによるフラクトース転移反応を用いるのが最も有効な方法である。フラクトースを結合させるための出発物質は公知の化学合成反応、公知の酵素反応を用いることができる。

【0013】

本発明で用いられる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼは微生物を用いて生産され、その生成菌としては*Arthrobacter*属に属し、フラクトース転移反応を行う酵素を生産する能力を有しているものであればよく、*Arthrobacter globiformis* IFO 3062、*Arthrobacter aureus*等 (ATC



Cから入手可能)とその変異種、変異株等が挙げられる。変異手段としては公知のものでよく、例えばラジオアイソトープ、紫外線、ニトロソグアニジン、遺伝子組換え等を用いることができる。

#### 【0014】

上記微生物を培養するための培地としては、炭素源、窒素源を含有し、微生物が最も効率よく $\beta$ -フラクトフラノシダーゼを産生できる組成の培地であれば特に制限しない。炭素源としてはショ糖、マルトース、ラクトース、可溶性澱粉等が挙げられる。窒素源としては硝酸塩、アンモニウム塩、酵母エキス、コーン・ステープ・リカー等が挙げられる。この他、マグネシウム塩、カルシウム塩、リン酸塩などの無機塩類等、微生物の生育に必要な栄養物質を培地に適宜加えることができる。好ましい培地組成としては、例えば、1%ポリペプトン、0.2%酵母エキス、0.1%MgSO<sub>4</sub>を含むものである。

#### 【0015】

本発明で用いる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼを生産するためには、選定した培地に上記微生物を植菌し、pHを中性乃至微酸性、温度を20℃～45℃、好ましくは30℃～40℃に保ちつつ、10時間程度～数日振とうあるいは通気攪拌培養すればよい。以上のようにして得られた培養物より酵素は公知の方法で採取、精製できる。例えば、培養物より遠心分離し、菌体を除いた上清液を粗酵素液として使用できる。さらに必要に応じて公知の方法、例えば塩析法、疎水クロマトグラフィー法、ゲルろ過法、イオン交換クロマトグラフィー法等を単独あるいは組合わせて精製することができる。

本発明で用いる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼはショ糖による酵素誘導型であり、ショ糖の最適濃度は2.5%付近に最適活性を示す。

#### 【0016】

本発明の $\beta$ -グルカンの製造方法は、本法に限定されるものではないが、例えばグルコース残基3以上の $\beta$ -グルカンの存在下、ショ糖に、上記の様にして得られる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼを作用させて、末端に非還元性糖であるフラクトースが結合した $\beta$ -グルカンを含む分散液とした後、乾燥することにより得られる。反応を行うに際し、本酵素の性質を考慮して目的とする末端に非還元性糖であるフラクトースが結合した $\beta$ -グルカンの精製が最大となるような条件を選定すべきである。また乾燥方法は特に制限はないが、例えば、凍結乾燥、噴霧乾燥、ドラム乾燥、棚段乾燥、気流乾燥、真空乾燥及び有機溶媒乾燥等、一般的に行われる乾燥方法が挙げられる。

#### 【0017】

本発明で用いる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼとしては、分子量が60000、比活性が102U/mg、反応速度パラメータがK<sub>m</sub>=2.6mM、V<sub>max</sub>=127 $\mu$ mol/min/mgである単一精製酵素が好ましい。

#### 【0018】

本発明で用いる $\beta$ -フラクトフラノシダーゼと全く同様のフラクトース転移活性を有するものとしては、例えば*Arthrobacter globiformis* IFO3062から単離される $\beta$ -フラクトフラノシダーゼをコードする遺伝子からクローニングした蛋白質が挙げられる。この蛋白質のすべてを記述することは困難であるものの、N-末端構造解析より10個の特異的な配列を有していることが明らかとなり、ATDAAPGF PQで示されるA:アラニン、T:スレオニン、D:アスパラギン酸、P:プロリン、G:グリシン、F:フェニルアラニン、Q:グルタミン)。したがって、本発明のフラクトース転移活性を有する酵素を使用しているか否かは、反応系に含まれる蛋白質のN-末端の配列10個を調べることによって確認することができる。

#### 【0019】

本発明の $\beta$ -グルカン粉末は、本発明の $\beta$ -グルカン粉末と1種以上の活性成分を含む組成物とすることができる。活性成分とは、医薬品薬効成分、農薬成分、肥料成分、飼料成分、食品成分、化粧品成分、色素、香料、金属、セラミックス、触媒、界面活性剤等であり、粉体状、結晶状、油状、液状、半固形状などいずれの形態でも良く、細粒、顆粒等の形態を有していても良い。また溶出制御、苦味低減等の目的でコーティングを施したも

のであってもよい。活性成分は、それ単独で使用しても、2種以上を併用してもよい。

#### 【0020】

例えば医薬品薬効成分としては、解熱鎮痛消炎薬、催眠鎮静薬、眠気防止薬、鎮暈薬、小児鎮痛薬、健胃薬、制酸薬、消化薬、強心薬、不整脈用薬、降圧薬、血管拡張薬、利尿薬、抗潰瘍薬、整腸薬、骨粗鬆症治療薬、鎮咳去痰薬、抗喘息薬、抗菌剤、頻尿改善剤、滋養強壮剤、ビタミン剤など、経口で投与されるものが対象となる。薬効成分は、それを単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

#### 【0021】

本発明でいう組成物は、活性成分、本発明の $\beta$ -グルカン粉末の他に、必要に応じて崩壊剤、結合剤、流動化剤、滑沢剤、矯味剤、香料、着色剤、甘味剤等の他の成分を含有することも自由である。また他の成分は希釈剤として使用することも自由である。

#### 【0022】

結合剤としては、白糖、ブドウ糖、乳糖、果糖、トレハロース等の糖類、マンニトール、キシリトール、マルチトール、エリスリトール、ソルビトール等の糖アルコール類、ゼラチン、プルラン、カラギーナン、ローカストビーンガム、寒天、グルコナンナン、キサンタンガム、タマリンドガム、ペクチン、アルギン酸ナトリウム、アラビアガム等の水溶性多糖類、結晶セルロース（例えば、旭化成株式会社製、「アビセル」PH-101、PH-101D、PH-101L、PH-102、PH-301、PH-301Z、PH-302、PH-F20、PH-M06、M15、M25、「セオラス」KG-801、KG-802等）、粉末セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース等のセルロース類、アルファー化デンプン、デンプン糊等のデンプン類、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルアルコール等の合成高分子類、リン酸水素カルシウム、炭酸カルシウム、合成ヒドロタルサイト、ケイ酸アルミン酸マグネシウム等の無機化合物類等が挙げられことができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

#### 【0023】

結晶セルロースの中でも、圧縮成形性に優れるものは、低打圧で打錠できるため打圧で失活する活性成分の活性維持が可能である、顆粒含有錠とできる、少量添加で硬度を付与できるため、嵩高い活性成分の錠剤化や多種類の活性成分を含む薬剤の錠剤化が可能で、場合によっては小型化できる、液状成分の担持性に優れ、打錠障害を抑制できる等の利点を有する。

#### 【0024】

崩壊剤としては、クロスカルメロースナトリウム、カルメロース、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース等のセルロース類、カルボキシメチルスターチナトリウム、ヒドロキシプロピルスターチ、コメデンプン、コムギデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、部分アルファー化デンプン等のデンプン類、結晶セルロース、粉末セルロース等のセルロース類、クロスポビドン、クロスポビドンコポリマー等の合成高分子等が挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

#### 【0025】

流動化剤としては、含水二酸化ケイ素、軽質無水ケイ酸等のケイ素化合物類を挙げることができ、それ単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

#### 【0026】

滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シヨ糖脂肪酸エステル、タルク等が挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

矯味剤としては、グルタミン酸、フマル酸、コハク酸、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酒石酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、塩化ナトリウム、1-メントール等を挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

。



## 【0027】

香料としては、オレンジ、バニラ、ストロベリー、ヨーグルト、メントール、ウイキョウ油、ケイヒ油、トウヒ油、ハッカ油等の油類、緑茶末等を挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

## 【0028】

着色剤としては、食用赤色3号、食用黄色5号、食用青色1号等の食用色素、銅クロロフィンナトリウム、酸化チタン、リボフラビンなどを挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

## 【0029】

甘味剤としては、アスパルテーム、サッカリン、ギリチルリチン酸二カリウム、ステビア、マルトース、マルチトール、水飴、アマチャ末等を挙げることができ、上記から選ばれる1種を単独で使用しても、2種以上を併用することも自由である。

## 【0030】

本発明でいう組成物の例としては、医薬品に用いる場合、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、エキス剤、丸剤、ドライシロップ剤等の固形製剤が挙げられ、例えば押出造粒、破碎造粒、流動層造粒、高速攪拌造粒、転動流動造粒等の公知の方法により製造できる。またドリンク等の液剤を公知の方法で製造することができる。医薬品に限らず、菓子、健康食品、食感改良剤、食物繊維強化剤等の食品、固形ファンデーション、浴用剤、動物薬、診断薬、農薬、肥料、セラミックス触媒等に利用されるものであってもよい。

## 【0031】

本発明でいう組成物の例としては、生産性、服用性、取扱いのよさから、錠剤とするのが好ましい。錠剤は直接打錠法、乾式顆粒圧縮法、湿式顆粒圧縮法、後末法等で得られ、予め圧縮成形した錠剤を内核とする多核錠であってもよいが、コスト、簡便性の観点から直接打錠により得られた錠剤が特に好ましい。

## 【0032】

また本発明でいう組成物は、味のマスキング、防湿等の目的でコーティングが施されていても良い。コーティング剤としては例えばセルロース系コーティング剤（エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、セルロースアセテートサクシネート、セルロースアセテートフタレート、セルロースアセテート等）、アクリルポリマー系コーティング剤（オイドラギットRS、オイドラギットL、オイドラギットNE等）、シェラック、シリコン樹脂等が挙げられ、これらを単独または2つ以上組み合わせ用いても良い。これらのコーティング剤の使用方法は公知の方法を用いることができる。コーティング剤は有機溶媒に溶解しても、水に懸濁させてもよい。水に懸濁させた状態で医薬品活性成分や他の成分とともに造粒することも自由である。

## 【0033】

また、本発明のβ-グルカン粉末は、医薬、食品用途等において、ビフィズス菌の増殖因子、食物繊維等として整腸効果が期待され、これらの目的で組成物に添加することも自由である。

## 【発明の効果】

## 【0034】

本発明のβ-グルカンは、主として医薬、食品用途において、末端にアミノ基を有する活性成分と化学的相互作用（メイラード反応等）を起こさず、安定性の問題や機能低下の問題を生じることがない。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0035】

実施例により本発明を詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

## 製造例1

Arthrobacter globiformis IFO3062 普通寒天斜面培

出証特2004-3121454

地に *Arthrobacter globiformis* IFO3062 を接種し、37℃で2日間培養後、その1白金耳を取り、1%ポリペプトン、0.2%酵母エキス、0.1%MgSO<sub>4</sub>の組成からなる培地に植菌し、30℃で2日間通気振とう培養した。培養液を遠心分離して上清をDEAE-toyopearl 650Mクロマトグラフィー、さらにその溶出液のToyopearl HW-55ゲルろ過、さらにFPLCクロマトグラフィーにより精製酵素を得た。

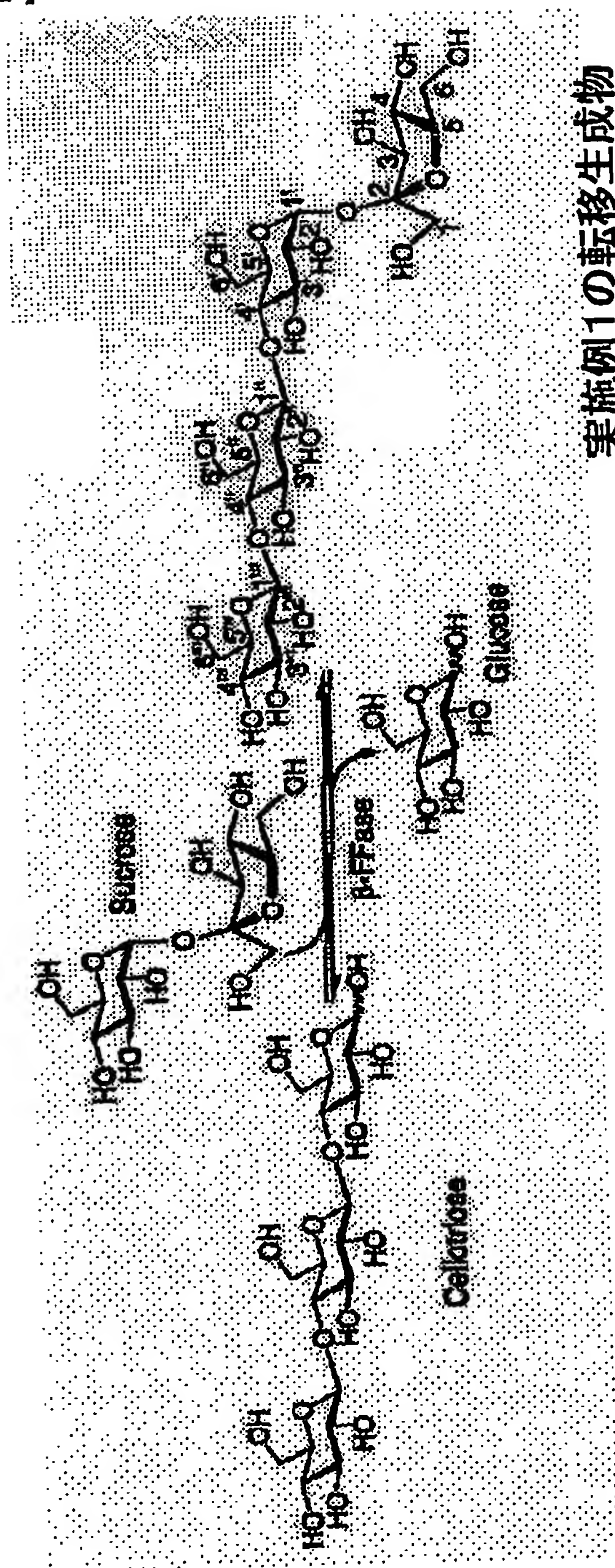
【0036】

実施例1

5%ショ糖、5%セロトリオース、製造例1で得られた精製酵素を加えてリン酸緩衝液(pH7.0)中、37℃で20時間反応し、セロトリオースの還元末端にフラクトースが結合した転移生成物を得た。転移生成物の構造はプロトンNMR、カーボンNMRにより確認した(化1、表1)。

【0037】

【化1】



実施例1の転移生成物

【0038】

【表 1】

実施例1、転移生成物の<sup>1</sup>H-、<sup>13</sup>C-NMRケミカルシフト

Carbon atom Number	$\sigma_{\text{H}}$ ppm	J(H, H) Hz	$\sigma_{\text{C}}$ ppm
1	3.66	s	64.1
2			106.5
3	4.20	d、8.9	79.2
4	4.02	dd、8.9、 8.6	76.8
5	3.87		84.2
6	3.79		65.1
1'	5.39	d、3.7	94.7
2'	3.59	dd、10、 3.7	73.6
3'	3.86		73.9
4'	3.69		81.0
5'	3.96		73.9
6'	3.90		62.2
	3.83		
1''	4.51	d、8.1	105.1
2''	3.35		75.8
3''	3.64		76.9
4''	3.65		81.2
5''	3.61		77.6
6''	3.97		62.7
	3.81		
1'''	4.49	d、8.1	105.4
2'''	3.30		76.0
3'''	3.49		78.3
4'''	3.40		72.3
5'''	3.47		78.8
6'''	3.90		63.4
	3.70		

ケミカルシフト(ppm)は重水中、sodium[2,2,3,3-D4]-  
3-(trimethylsilyl)propanoateを0ppmとした時の相対値  
s           singlet  
d           doublet  
dd          double doublet

【0039】  
実施例 2

1. 25%ショ糖、1. 25%グルコース残基40のβ-グルカン、製造例1で得られ  
出証特2004-3121454

た精製酵素を加えてリン酸緩衝液 (pH 7.0) 中、37℃で9時間反応し、グルコース残基 40 の  $\beta$ -グルカンの還元末端にフラクトースが結合した転移生成物を得た。

フラクトースが結合したか否かは、マススペクトルによる [180-18] のピークの増加と L-アルギニンとの等量混合物の保存安定性試験 (40℃、75% RH、密栓保存、2週間) により確認した。白色度の低下率は 3% (開始時 99%、試験後 96%) であった。見た目にも白色を維持していた。

#### 【0040】

##### 実施例 3

1. 25% ショ糖、1. 25% グルコース残基 220 の  $\beta$ -グルカン、製造例 1 で得られた精製酵素を加えてリン酸緩衝液 (pH 7.0) 中、37℃で9時間反応し、グルコース残基 220 の  $\beta$ -グルカンの還元末端にフラクトースが結合した転移生成物を得た。

フラクトースが結合したか否かは、マススペクトルによる [180-18] のピークの増加と L-アルギニンとの等量混合物の保存安定性試験 (40℃、75% RH、密栓保存、2週間) により確認した。白色度の低下率は 2% (開始時 99%、試験後 97%) であった。見た目にも白色を維持していた。

#### 【0041】

##### 実施例 4

1. 25% ショ糖、1. 25% グルコース残基 500 の  $\beta$ -グルカン、製造例 1 で得られた精製酵素を加えてリン酸緩衝液 (pH 7.0) 中、37℃で9時間反応し、グルコース残基 500 の  $\beta$ -グルカンの還元末端にフラクトースが結合した転移生成物を得た。

フラクトースが結合したか否かは、重合度の測定と L-アルギニンとの等量混合物の保存安定性試験 (40℃、75% RH、密栓保存、2週間) により確認した。白色度の低下率は 1% (開始時 99%、試験後 98%) であった。見た目にも白色を維持していた。

#### 【0042】

##### 比較例 1

グルコース残基 220 の  $\beta$ -グルカンである「アビセル」PH-101 (旭化成株式会社製) と L-アルギニンとの等量混合物を保存安定性試験 (40℃、75% RH、密栓保存、2週間) したところ、白色度の低下率は 10% (開始時 99%、試験後 89%) であった。見た目に明らかに黄変していた。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0043】

本発明は、医薬、農薬、肥料、飼料、食品、工業、化粧品等の用途において、末端にアミノ基を有する活性成分と化学的相互作用 (メイラード反応等) を起こさないため安定的な組成物を提供でき、主として医薬、食品用途等の分野において好適に利用できる。



## 【書類名】 要約書

## 【要約】

【課題】 医薬、農薬、肥料、飼料、食品、工業、化粧品等の用途において、末端にアミノ基を有する活性成分と化学的相互作用（メイラード反応等）を起こさず、安定的に配合できる  $\beta$ -グルカンを提供し、またそれを含む安全性の問題、機能低下の問題のない組成物を提供する。

## 【解決手段】

還元末端に非還元糖が結合したグルコース残基 3 以上の  $\beta$ -グルカン粉末、この  $\beta$ -グルカン粉末は、*Arthrobacter* 属が産生する  $\beta$ -fructofuranosidase を用いた、 $\beta$ -グルカンの還元末端側からの糖転移反応を利用することにより製造できる。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 3 9 8 5 1 4
受付番号	5 0 3 0 1 9 6 2 4 0 9
書類名	特許願
担当官	鈴木 夏生 6 8 9 0
作成日	平成 1 5 年 1 2 月 1 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成 1 5 年 1 1 月 2 8 日

特願 2 0 0 3 - 3 9 8 5 1 4

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 3 0 3 0 4 6 3 1 4 ]

1. 変更年月日	2 0 0 3 年 8 月 2 0 日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都千代田区有楽町一丁目 1 番 2 号
氏 名	旭化成ケミカルズ株式会社